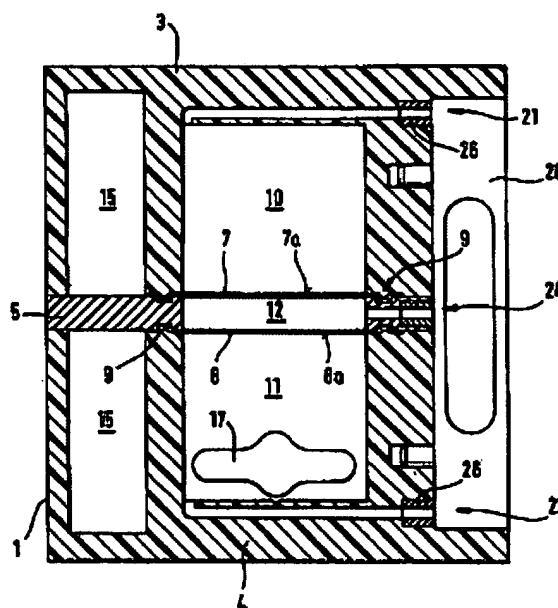


DEVICE FOR CARRYING OUT THE CELL-FREE SYNTHESIS OF PROTEINS**Patent number:** WO0044877**Publication date:** 2000-08-03**Inventor:** MENZLER HORST (DE); SCHELS HANS (DE);
FISCHER ULRIKE (DE)**Applicant:** MENZLER HORST (DE); SCHELS HANS (DE);
FISCHER ULRIKE (DE); ROCHE DIAGNOSTICS GMBH
(DE)**Classification:****- international:** C12M1/40; C12P21/02**- european:** C12M1/40**Application number:** WO2000DE00190 20000121**Priority number(s):** EP19990101418 19990127**Also published as:** US6670173 (B1)**Cited documents:** WO9418341 WO9207062 EP0894852 US5478730**Abstract of WO0044877**

The invention relates to a bioreaction module for biochemical reactions, especially for cell-free polypeptide-biosynthesis, comprising a housing (1) which encompasses a system chamber (12) and a supply chamber (10). During the biochemical reaction, the system chamber (12) contains a producing system and the supply chamber (10) contains a supply liquid. The system chamber (12) and the supply chamber (10) are separated by a semipermeable membrane (7). The housing (1) has a system chamber part (5) and at least one supply chamber part (3), between which the semipermeable membrane (7) is fixed. The system chamber (12) is delimited by the system chamber part (5) and the semipermeable membrane (7) and the supply chamber (10) is delimited by the supply chamber part (3) and the semipermeable membrane (7).



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 7 : C12M 1/40, C12P 21/02	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/44877 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 3. August 2000 (03.08.00)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/00190 (22) Internationales Anmeldedatum: 21. Januar 2000 (21.01.00) (30) Prioritätsdaten: 99101418.4 27. Januar 1999 (27.01.99) EP (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): ROCHE DIAGNOSTICS GMBH [DE/DE]; Sandhofer Strasse 116, D-68298 Mannheim (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHELS, Hans [DE/DE]; Behamstrasse 21, D-80687 München (DE). MENZLER, Horst [DE/DE]; Bahnhofstrasse 75, D-82347 Bernried (DE). FISCHER, Ulrike [DE/DE]; Paul-Loebe-Strasse 15, D-82377 Penzberg (DE). (74) Anwälte: PFEIFER, Hans-Peter usw.; Beiertheimer Allee 19, D-76137 Karlsruhe (DE).	(81) Bestimmungsstaaten: CA, DE, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>	

(54) Title: DEVICE FOR CARRYING OUT THE CELL-FREE SYNTHESIS OF PROTEINS

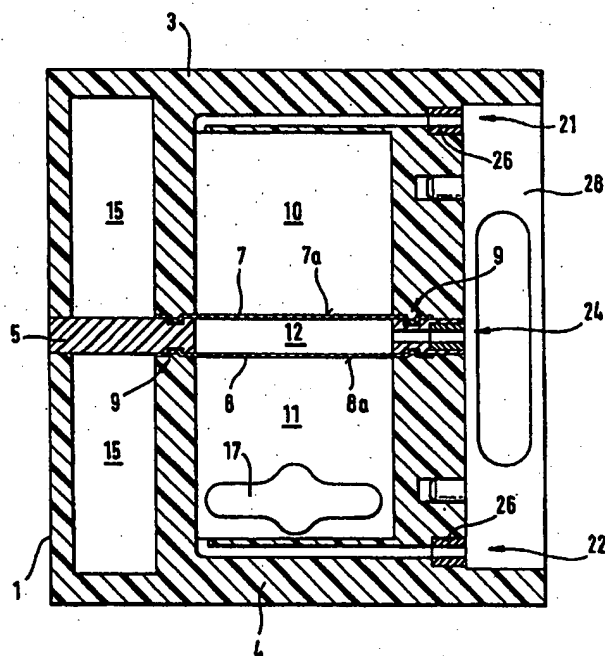
(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG ZUR ZELLFREIEN SYNTHESE VON PROTEINEN

(57) Abstract

The invention relates to a bioreaction module for biochemical reactions, especially for cell-free polypeptide-biosynthesis, comprising a housing (1) which encompasses a system chamber (12) and a supply chamber (10). During the biochemical reaction, the system chamber (12) contains a producing system and the supply chamber (10) contains a supply liquid. The system chamber (12) and the supply chamber (10) are separated by a semipermeable membrane (7). The housing (1) has a system chamber part (5) and at least one supply chamber part (3), between which the semipermeable membrane (7) is fixed. The system chamber (12) is delimited by the system chamber part (5) and the semipermeable membrane (7) and the supply chamber (10) is delimited by the supply chamber part (3) and the semipermeable membrane (7).

(57) Zusammenfassung

Bioreaktionsmodul für biochemische Reaktionen, insbesondere für die zellfreie Polypeptid-Biosynthese, mit einem Gehäuse (1), das eine Systemkammer (12) und eine Versorgungskammer (10) umschließt, wobei die Systemkammer (12) während der biochemischen Reaktion ein produzierendes System enthält, die Versorgungskammer (10) während der biochemischen Reaktion eine Versorgungsflüssigkeit enthält und die Systemkammer (12) und die Versorgungskammer (10) durch eine semipermeable Membran (7) getrennt sind. Das Gehäuse (1) weist ein Systemkammerteil (5) und mindestens ein Versorgungskammerteil (3) auf, zwischen denen die semipermeable Membran (7) eingespannt ist, wobei die Systemkammer (12) von dem Systemkammerteil (5) und der semipermeablen Membran (7) und die Versorgungskammer (10) von dem Versorgungskammerteil (3) und der semipermeablen Membran (7) begrenzt ist.



LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland		Republik Mazedonien	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		Amerika
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun		Korea	PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

VORRICHTUNG ZUR ZELLFREIEN SYNTHESE VON PROTEINEN

Die Erfindung betrifft einen Bioreaktionsmodul für biochemische Reaktionen, insbesondere für die zellfreie Biosynthese von Proteinen oder anderen Polypeptiden. In der Biotechnologie werden biochemische Reaktionen vielfach in kleinen, leicht handhabbaren Reaktionsgefäßen durchgeführt, die hier als Bioreaktionsmodul bezeichnet werden. Sie dienen vor allem für die Biosynthese von Polypeptiden, wie beispielsweise Peptidhormonen, Antibiotika und - in neuerer Zeit besonders bedeutsam - Humanproteinen. Zu den dabei benutzten biochemischen Systemen gehören reine Translationssysteme, bei denen die Biosynthese auf dem genetischen Code einer Boten-RNA (mRNA) basiert und Transcriptions/Translations-Systeme, die auch den vorausgehenden Schritt der Bildung von Boten-RNA aus DNA umfassen. Neben der Biosynthese werden Bioreaktionsmodule auch für andere biochemische Reaktionen, insbesondere enzymatische Reaktionen, verwendet.

Von besonderer Bedeutung ist die zellfreie Biosynthese, die im Vergleich zu in-vivo Systemen wesentliche Vorteile hat. Beispielsweise ermöglicht sie die Expression von toxischen und instabilen Genprodukten. Die zellfreie Biosynthese wird oft für analytische Zwecke verwendet, insbesondere um rasch und bequem zu verifizieren, daß aus einem geklonten Gen tatsächlich die gewünschten Genprodukte synthetisiert werden. Daneben gibt es viele andere

wichtige Anwendungsfälle, wie beispielsweise die Untersuchung von Eiweiß:Eiweiß Wechselwirkungen und Eiweiß:DNA Wechselwirkungen.

Ein Verfahren zur zellfreien Biosynthese von Polypeptiden ist beispielsweise in der US-Patentschrift 5,478,730 beschrieben. Das dort verwendete Translationssystem enthält eine Quelle von mRNA, die das Polypeptid codiert. Weiter sind in dem zellfreien Synthesesystem Ribosomen, tRNA, Aminosäuren, ATP und GTP enthalten. Die Translation der mRNA mit Hilfe der tRNA führt zur Produktion des Polypeptids, wobei zugleich Nebenprodukte und Abfallstoffe mit niedrigerem Molekulargewicht entstehen. Diese können durch eine semipermeable Membran, die den Raum, in dem das Synthesesystem enthalten ist, von einem Versorgungsraum trennt, in den Versorgungsraum übertreten. Der Versorgungsraum enthält eine als Versorgungsmedium wirkende Flüssigkeit, in der ATP, GTP und Aminosäuren enthalten sind. Diese Komponenten werden durch die semipermeable Membran dem Synthesesystem zugeführt, um den Verbrauch während der Bioreaktion zu ersetzen. Der Durchtritt durch die semipermeable Membran ist möglich, weil ihr Molekulargewicht unterhalb von deren Durchlaßgrenze liegt. Zugleich gelangen Produkte der biochemischen Reaktion und andere Substanzen, deren Molekulargewicht unterhalb der Durchlaßgrenze der Barriere liegt, aus dem Reaktionsraum in den Versorgungsraum. Die semipermeable Membran ist gemäß der US-Patentschrift 5,478,730 eine Ultrafiltrationsmembran in Form von Membran-Hohlfasern.

Die US-Patentschrift 5,478,730 enthält umfangreiche weitere Erläuterungen über geeignete Zusammensetzungen des Synthesesystems und der Versorgungsflüssigkeit. Insoweit bezieht sich die vorliegende Erfindung auf den vorbekannten Stand der Technik, wie er insbesondere dieser US-

Patentschrift und den darin zitierten Literaturstellen zu entnehmen ist. Deren Inhalt wird durch Bezugnahme zum Inhalt der vorliegenden Anmeldung gemacht.

Die bei biochemischen Reaktionen insgesamt biochemisch wirksamen Komponenten kann man allgemein als "produzierendes System" bezeichnen. Soweit die Erfindung für andere biochemische Reaktionen als Polypeptidsynthesen verwendet wird, wird ein dem jeweiligen Anwendungszweck angepaßtes produzierendes System eingesetzt. Auch hierzu können nähere Angaben der einschlägigen Literatur entnommen werden. Ein produzierendes System kann grundsätzlich alles sein, was in der Lage ist, die Umsetzung bzw. die Synthese gewünschter Verbindungen auf biochemischem Wege zu ermöglichen oder zu beschleunigen. Neben dem erwähnten Translations- bzw. Transcriptionssystemen kommen insbesondere Enzyme und Enzymkomplexe in Verbindung mit den bei derartigen Verfahren gebräuchlichen Hilfssubstanzen in Betracht.

Da die für die Biosynthese von Polypeptiden erforderliche mRNA meist nur in sehr geringen Mengen zur Verfügung steht, sind die Bioreaktionsmodule vielfach sehr klein. Die Erfindung richtet sich insbesondere auf Mikro-Bioreaktionsmodule, bei denen die Kammer, die das produzierende System enthält, ("Systemkammer") ein Volumen von vorzugsweise höchstens 2 ml, jedenfalls weniger als 10 ml, hat. Da es sich dabei um zur einmaligen Verwendung vorgesehene Einwegprodukte handelt, kommt es besonders darauf an, daß solche Mikro-Bioreaktionsmodule zu günstigen Kosten herstellbar sind.

Ein besonderes Problem bei der Durchführung von biochemischen Reaktionen in Bioreaktionsmodulen besteht darin, eine möglichst hohe Ausbeute, also eine möglichst große

Produktmenge bezogen auf die eingesetzte Menge an mRNA zu erzielen. Um dieses Ziel zu erreichen wird in der US Patentschrift 5,478,730 ein Verfahren beschrieben, das in der Fachwelt als CFCF (continuous flow cell free)-Synthese bezeichnet wird. Dabei wird das produzierende System in eine Ultrafiltrationszelle eingeschlossen und die Versorgungsflüssigkeit durch die semipermeable Membran hindurch in den Raum gepumpt, in dem sich das produzierende System befindet. Die Ausbeute ist dabei wesentlich von der pro Zeiteinheit dem produzierenden System zugeführten Menge an Versorgungsflüssigkeit (Zufuhrtrate) abhängig. Beispielsweise wird in der US-Patentschrift 5,478,730 ein Versuch mit einem Synthesekammervolumen von 1 ml beschrieben, bei dem die Zufuhrtrate zwischen 2 ml/h und 3 ml/h variiert wurde. Die Ergebnisse zeigen, daß mit der höheren Zufuhrtrate eine hohe Produktionsleistung resultierte, während bei der niedrigeren Zufuhrtrate die Produktmenge kaum zunahm.

Mit Hilfe des CFCF-Systems können hohe Produktausbeuten (über 100 µg für ein Systemkammervolumen von 1 ml) erreicht werden, jedoch sind damit erhebliche Nachteile verbunden. Beispielsweise wird in der Publikation J. Davis et al.: "in vitro Transcription/Translation"; Promega Notes 56, 14 - 21, das CFCF-Verfahren wegen Problemen durch Verstopfung der Membran, störende Proteinaggregation und unerklärliche Unterbrechung der Translation kritisiert. Außerdem ist eine aufwendige Apparatur notwendig. Deshalb schlagen die Autoren dieser Publikation die Verwendung eines sogenannten "DispoDialyzer R" vor. Dabei handelt es sich um ein kleines röhrenförmiges Gefäß mit semipermeablen Wänden, in das 250 µl produzierendes System eingefüllt werden. Zur Durchführung der Biosynthese wird der Dispodialyzer in einem konischen 15 ml Laborröhrchen plaziert, das zwischen 3,5 und 7 ml

Versorgungsflüssigkeit enthält. Das Laborröhrchen mit dem DispoDialyzer wird während der Reaktionszeit (20 Stunden) mittels eines Laborschüttelgerätes geschüttelt.

Durch diese Verfahrensweise sollen die Nachteile des CFCF-Verfahrens vermieden und es soll mit einer verhältnismäßig einfachen Apparatur eine hohe Produktausbeute ermöglicht werden. Diese Ziele werden jedoch nur in unzureichendem Umfang erreicht. Außerdem ist die Handhabung umständlich und die Qualität des Syntheseergebnisses sehr unterschiedlich. In vielen Fällen entstehen Undichtigkeiten oder sonstige mechanische Beschädigungen der Membran, die zu einem unbrauchbaren Resultat führen.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, einen Bioreaktionsmodul zur Verfügung zu stellen, mit dem Bioreaktionen einfach, kostengünstig und mit einer möglichst hohen Ausbeute durchgeführt werden können.

Die Aufgabe wird gelöst durch einen Bioreaktionsmodul für biochemische Reaktionen, insbesondere für die zellfreie Polypeptid-Biosynthese, mit einem Gehäuse, das eine Systemkammer und eine Versorgungskammer umschließt, wobei die Systemkammer während der biochemischen Reaktion ein produzierendes System enthält, die Versorgungskammer während der biochemischen Reaktion eine Versorgungsflüssigkeit enthält und die Systemkammer und die Versorgungskammer durch eine semipermeable Membran getrennt sind, welcher dadurch gekennzeichnet ist, daß das Gehäuse ein Systemkammerteil und mindestens ein Versorgungskammerteil aufweist und die semipermeable Membran zwischen den Kammerelementen derartig eingespannt ist, daß die Systemkammer von dem Systemkammerteil und der semipermeablen Membran und die Versorgungskammer von dem Versorgungskammerteil und der semipermeablen Membran begrenzt ist.

Außerdem richtet sich die Erfindung auf ein Bioreaktionsverfahren unter Verwendung eines solchen Moduls.

Ein erfindungsgemäßer Bioreaktionsmodul besteht aus wenigen Teilen, die einfach hergestellt und zusammengebaut werden können. Trotz der daraus resultierenden geringen Herstellkosten ermöglicht er bei einfacher Handhabung die Durchführung von Bioreaktionen mit hoher Ausbeute.

Der erfindungsgemäße Bioreaktor eignet sich für unterschiedliche Bioreaktionsverfahren, darunter auch für Durchfluß(continuous flow)-Verfahren. Bevorzugt wird er jedoch bei Verfahren verwendet, bei denen kein Pumpvorgang stattfindet, d.h. die Versorgungsflüssigkeit in der Versorgungskammer während der biochemischen Reaktion nicht mit externem Druck beaufschlagt wird. Infolgedessen basiert der Substanztausch zwischen den Kammern ausschließlich auf Diffusion durch die Membran, also auf Dialyse. In dem Maß, in dem in der mittleren Kammer die Konzentration von bei der Biosynthese verbrauchten Substanzen abnimmt, strömen diese aufgrund des Konzentrationsgefälles aus der mindestens einen Versorgungskammer nach. Entsprechendes geschieht umgekehrt mit Abfallstoffen der Biosynthese.

Die semipermeable Membran ist bevorzugt eine Dialysemembran. Dialysemembranen sind (bei gleicher Ausschlußgrenze) im Verhältnis zu den bei Durchflußverfahren eingesetzten Ultrafiltrationsmembranen mechanisch weniger stabil. Dennoch treten bei dem erfindungsgemäßen Bioreaktionsmodul nur in sehr geringem Umfang mechanische Beschädigungen der Membran auf. Im Vergleich zu einer Ultrafiltrationsmembran mit gleicher Durchlaßgrenze wird eine wesentlich effektivere Biosynthese (bessere Ausbeute) erreicht. Bevorzugt liegt die Durchlaßgrenze

(molecular cutoff) bei mindestens etwa 10 kD und höchstens etwa 20 kD.

Für manche Fälle ist eine Konstruktion vorteilhaft, bei der das Gehäuse zwei Versorgungskammern einschließt, die an eine Systemkammer angrenzen und von dieser durch eine erste und eine zweite semipermeable Membran getrennt sind. Das Gehäuse eines solchen 3-Kammer-Moduls weist zwei Versorgungskammerteile auf, wobei die erste semipermeable Membran zwischen dem Systemkammerteil und dem ersten Versorgungskammerteil und die zweite semipermeable Membran zwischen dem Systemkammerteil und dem zweiten Versorgungskammerteil eingespannt ist.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform enthält mindestens eine, bevorzugt jede, Kammer des Moduls ein Magnetrührelement, das mittels eines externen Magnetfeldes in eine Drehbewegung versetzt werden kann. Der Bioreaktionsmodul wird als einmal verwendbares Wegwerfteil gebrauchsfertig, gegebenenfalls einschließlich Magnetrührelement, hergestellt.

Die Erfindung wird im folgenden anhand von in den Figuren dargestellten Ausführungsbeispielen näher erläutert; es zeigen:

Fig. 1 Eine perspektivische Außenansicht eines erfindungsgemäßen Bioreaktionsmoduls,

Fig. 2 eine Explosionsdarstellung des Moduls gemäß Fig. 1,

Fig. 3 einen Querschnitt durch eine geringfügig abgewandelte Ausführungsform eines Bioreaktionsmoduls,

Fig. 4 eine Detaildarstellung aus Fig. 3 zur Verdeutlichung einer bevorzugten Konstruktion zum Einspannen des Randbereiches einer Membran,

Fig. 5 einen Querschnitt durch eine weitere bevorzugte Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Bioreaktionsmoduls.

Das Gehäuse 1 des in den Figuren 1 bis 4 dargestellten Bioreaktionsmoduls 2 besteht im wesentlichen aus drei Kammerteilen, nämlich einem ersten Versorgungskammerteil 3, einem zweiten Versorgungskammerteil 4 und einem zwischen den beiden Versorgungskammerteilen angeordneten und mit diesen verbundenen Systemkammerteil 5. Eine erste semipermeable Membran 7 ist zwischen dem ersten Versorgungskammerteil 3 und dem Systemkammerteil 5 derartig eingespannt, daß ein peripherer, die Austauschfläche der Membran umgebender Randstreifen 14 zwischen den angrenzenden Kammerteilen 3,5 eingeklemmt und die Membran dadurch gespannt ist. In gleicher Weise ist zwischen dem zweiten Versorgungskammerteil und dem Systemkammerteil eine zweite semipermeable Membran 8 eingespannt.

Eine erste Versorgungskammer 10 wird durch die Wände einer in dem ersten Versorgungskammerteil 3 vorgesehenen nur zu dem Systemkammerteil 5 hin offenen Ausnehmung und die erste, die die Öffnung der Ausnehmung überspannende, semipermeable Membran 7 begrenzt. Entsprechend wird eine zweite Versorgungskammer 11 von den Wänden einer ebenfalls einseitig offenen Ausnehmung des zweiten Versorgungskammerteils 4 und der zweiten semipermeablen Membran umschlossen. Zwischen den beiden semipermeablen Membranen 7, 8 befindet sich eine Systemkammer 12, die von den beiden Membranen und den Wänden einer beidseitig offenen Ausnehmung des Systemkammerteils 5 gebildet wird. Die Wände der Ausnehmungen in den Kammerteilen 3,4 und 5

fluchten, d.h. ihre an die Membranen 7,8 angrenzenden Kanten umrahmen die Membranen entlang einer übereinstimmenden Begrenzungslinie.

Die Membranen 7,8 sind zwischen den Kammerteilen 3,5 bzw. 4,5 jeweils derartig dichtend eingespannt, daß ein molekularer Austausch zwischen der Systemkammer 12 und der benachbarten Versorgungskammer 10 bzw. 11 jeweils nur durch die Membran 7 bzw. 8 möglich ist. Dies wird durch an den Kammerteilen 3,5 bzw. 4,5 vorgesehene, die Austauschflächen 7a,8a der Membranen 7,8 umschließende ringförmige Dichtungsmittel 9 erreicht, zwischen denen der periphere Randbereich 14 der Membranen 7,8 dichtend eingespannt ist.

Eine bevorzugte Ausführungsform geeigneter Dichtungsmittel 9 ist in Figur 4 dargestellt. Dabei weist eines der die Membran einspannenden Kammerteile, im dargestellten Fall das Systemkammerteil 5, eine umlaufende Nut 13 und das andere Kammerteil, im dargestellten Fall das Versorgungskammerteil 3 eine mit der Nut fluchtende und in diese eindringende vorspringende Rippe 16 auf, durch die der zwischen den Kammerteilen 3,5 eingespannte periphere Randbereich 14 der Membran in die Nut 13 gedrückt wird. Der ringförmige Bereich der Kammerteile 3,5, in dem der periphere Randbereich 14 der Membran 7 eingespannt ist, wird als Spannbereich 18 bezeichnet. In einer praktisch bewährten Ausführungsform hat die Nut 13 eine Breite von etwa 1 mm und eine Tiefe von etwa 0,6 mm. Die Höhe der Rippe 16 beträgt dabei etwa 0,3 mm, ihre Fußbreite ist geringfügig kleiner als die Breite der Nut und ihre in die Nut eindringenden Kanten sind, wie in Figur 4 dargestellt, abgerundet.

Die Kammerteile 3,4,5 bestehen vorzugsweise aus Kunststoff, wie beispielsweise Polyether-Sulfon, PVC oder PMMA und werden beispielsweise als Gießteile hergestellt. Die Membran besteht aus Zelluloseacetat, unter Umständen aus Zellulosenitrat. In einem praktisch bewährten Ausführungsbeispiel betrug das Volumen der Systemkammer 1 ml und das Volumen der beiden benachbarten Versorgungskammern je 5 ml, so daß die Relation zwischen dem Volumen der Systemkammer und dem Gesamtvolumen der an die Systemkammer angrenzenden von dieser durch eine semipermeablen Membran getrennten Versorgungskammern 1:10 betrug. Vorzugsweise liegt diese Relation bei mindestens 1:5 und höchstens 1:20, wobei Werte von mindestens 1:7 und höchstens 1:15 bevorzugt sind.

Die Verbindung der Kammerteile 3,4,5 kann mit in der Kunststofftechnik üblichen Mitteln, beispielsweise durch Schrauben, Kleben oder als Kunststoff-Steckverbindung erfolgen. Wesentlich ist, daß die Kammerteile 3 bis 5 eine ausreichende Steifigkeit haben, um einen gleichmäßigen Druck auf den Randbereich der Membranen zu gewährleisten. Zur Gewichtsersparnis und Verbesserung der Steifigkeit können die Kammerteile zusätzliche Hohlräume, die bei der Benutzung des Bioreaktionsmoduls nicht mit Flüssigkeit gefüllt werden, wie beispielsweise die in Figur 3 dargestellten Hohlräume 15, aufweisen.

Vorzugsweise enthält mindestens eine der Kammern ein Magnetröhrelement 17, das der Übersichtlichkeit halber nur in einer der Versorgungskammern in Figur 3 dargestellt ist. Soweit mehrere Versorgungskammern vorhanden sind, ist es bevorzugt in beiden Versorgungskammern vorgesehen. Es kann auch vorteilhaft sein, in jeder der Kammern, also auch in der Systemkammer 12, ein Magnetröhrelement 17 vorzusehen. In der Regel ist es bevorzugt,

den Bioreaktionsmodul 2 möglichst weitgehend gebrauchsfertig, gegebenenfalls einschließlich der Magnetrührelemente, herzustellen und an den Benutzer zu liefern.

Die Verwendung eines Magnetrührelementes hat sich vor allem in Versorgungskammern mit einem Volumen von mehr als 2 ml, insbesondere mehr als 3 ml als vorteilhaft erwiesen. Bei noch kleineren Volumina der Versorgungskammer (und somit sehr kleinen Bioreaktionsmodulen) ist es vorteilhaft, den gesamten Bioreaktionsmodul während der biochemischen Reaktion zu schütteln. Dabei kann in mindestens einer der Kammern eine Rührkugel eingeschlossen sein, um die Durchmischung zu fördern.

Die Kammern können mittels einer gewöhnlichen Laborpipette gefüllt werden. Zu diesem Zweck weisen sie jeweils Anschlußöffnungen auf, von denen Leitungen in die jeweiligen Kammern führen. Bei der in Figur 2 dargestellten Ausführungsform haben die Versorgungskammern 10,11 je zwei Anschlußöffnungen 20,21 bzw. 22,23 und auch die Systemkammer 12 hat zwei Anschlußöffnungen 23,24. Im Mündungsbereich der Anschlußöffnungen sind jeweils Dichtungen, beispielsweise zylinderförmige Silikongummidichtungen 26 vorgesehen, die ein dichtes Anschließen der Pipetenspitze ermöglichen. Die Anschlußöffnungen 20 bis 25 sind mittels eines Deckelteils 28 verschließbar, welches Verschlußzapfen 29 aufweist, die beim Aufsetzen des Deckelteils 28 in die Anschlußöffnungen eindringen und mittels der Dichtungen 26 einen dichten Verschuß bewirken.

Zur Durchführung einer biochemischen Reaktion werden die Versorgungskammern 10 und 11 mit einer Versorgungsflüssigkeit und die Systemkammer 12 mit einem produzierenden System gefüllt. Während der biochemischen Reaktion wird

das mindestens eine Magnetrührelement 17 mittels eines externen Magnetfeldes in Rotation versetzt, so daß die Versorgungsflüssigkeit bzw. das produzierende System während der Reaktion ständig gerührt wird.

Für die Handhabung beim Befüllen des Bioreaktionsmoduls 2 ist es vorteilhaft, wenn das Gehäuse in einer Position aufgestellt werden kann, bei der die Anschlußöffnungen 20 bis 25 schräg nach oben gerichtet sind. Dies läßt sich dadurch erreichen, daß das Gehäuse eine quer zu der Membranoberfläche verlaufende Fußebene aufweist, die so orientiert ist, daß dann, wenn der Modul sich in einer Füllposition befindet, bei der er mit in der Fußebene liegenden Abstützpunkten auf einer horizontalen Fläche steht, die Membran im wesentlichen vertikal verläuft, wobei sich die Anschlußöffnungen 20 bis 25 im oberen Teil des Moduls, also zumindest oberhalb von dessen Mittelpunkt befinden. Diese Position wird als Füllposition bezeichnet. Bei dem in Figur 2 dargestellten Modul bilden die schräg verlaufenden Flächen 30 und 31 des insgesamt rombisch gestalteten Gehäuses jeweils eine Fußebene, die diese Bedingungen erfüllt. Die Fußebene muß jedoch nicht von einer geschlossenen ebenen Gehäusefläche gebildet werden. Da es nur auf die Orientierung des Gehäuses 1 ankommt, genügen drei Abstützpunkte, die eine die genannte Bedingung erfüllende Fußebene bilden.

Zum Füllen ist es vorteilhaft, wenn mindestens die Versorgungskammern jeweils eine Leitung 19 aufweisen, die dann, wenn sich der Modul in der Füllposition befindet, von der jeweiligen Anschlußöffnung derartig in den unteren Bereich der jeweiligen Kammer 10 bzw. 11 führen, daß sich die Mündung im unteren Bereich der Kammer, zumindest unterhalb von deren Mittelpunkt befindet.

Obwohl die Erfindung anhand eines 3-Kammer-Moduls beschrieben wurde, sind - wie dargelegt - auch Ausführungsformen mit einer abweichenden Anzahl von Kammern, insbesondere ein 2-Kammer-Modul, möglich. Die Konstruktion der Kammerteile und der Membraneinspannung kann dabei ähnlich wie bei den obigen Figuren gestaltet sein, wobei aber selbstverständlich das Systemkammerteil einseitig (auf der von der Versorgungskammer abgewandten Seite) geschlossen ist.

In Figur 5 ist ein solcher 2-Kammer-Modul dargestellt. Dabei sind die in ihrer Funktion der bisher beschriebenen Ausführungsform entsprechenden Bauteile mit den gleichen Bezugsziffern bezeichnet. Der Bioreaktionsmodul 2 enthält eine Systemkammer 12 und eine Versorgungskammer 10. Beide Kammern sind durch eine semipermeable Dialysemembran 7 voneinander getrennt. Die Systemkammer 12 ist von einem Systemkammerteil 5 und der semipermeablen Membran 7 begrenzt. Entsprechend ist die Versorgungskammer 10 von einem Versorgungskammerteil 3 und der semipermeablen Membran 7 begrenzt. Die Membran 7 ist an ihrem peripheren Randbereich 14 mittels ringförmig umlaufenden Dichtungsmitteln 9 dichtend eingespannt, wobei bevorzugt die anhand von Figur 4 beschriebene Konstruktion verwendet wird.

Zur Zentrierung und Fixierung der Membran 7 sind bei der dargestellten Ausführungsform mehrere (beispielsweise sechs) über den Umfang verteilte an einem der Kammerteile (hier dem Versorgungskammerteil 3) angegossene Stifte 36 vorgesehen. Die Membran 7 weist mit den Stiften 36 fluchtende Löcher 35 auf. Durch eine leicht konische Gestaltung der Stifte 36 und eine entsprechende Dimensionierung und Positionierung der Löcher 35 wird erreicht, daß die

Membran 7 beim Einsetzen in das mit den Stiften versehene Kammerteil 3 leicht vorgespannt wird.

Die Verbindung der Kammerteile 3 und 5 erfolgt bei der dargestellten bevorzugten Ausführungsform dadurch, daß das Systemkammerteil 5 in eine entsprechende vertiefte Aufnahme 34 des Versorgungskammerteils 3 eingepresst wird. Um eine stabile Befestigung zu gewährleisten, ist der Außendurchmesser des Systemkammerteils 5 mit einem geringfügigen Übermaß im Vergleich zu dem Innendurchmesser der Aufnahme 34 gefertigt.

An jedem der Kammerteile 3,5 ist jeweils in einer der Membran 7 gegenüberliegenden Wand 38 bzw. 39 eine Füllöffnung 40 bzw. 41 zum Füllen der von dem jeweiligen Kammerteil umschlossenen Kammer (also der Versorgungskammer 10 bzw. der Systemkammer 12) vorgesehen. Die Füllöffnungen 40,41 haben vorzugsweise jeweils einen runden Querschnitt und gehen in einen Füllkanal 42,43 über, der von einer rohrförmigen Wand 44 begrenzt wird, die sich in die jeweilige Kammer 10 bzw. 12 hinein erstreckt.

Der Füllkanal dient vor allem dem Zweck, das Schäumen der in die Kammer einzufüllenden biochemischen Flüssigkeit zu reduzieren. Der dargestellte Bioreaktionsmodul ist für Fälle vorgesehen, bei denen nur die in die Systemkammer 12 einzufüllende Flüssigkeit zur Schaumbildung neigt. Deswegen führt dort der Füllkanal 42 bis nahe an die Membran 7. Der in der Versorgungskammer 10 vorgesehene im Verhältnis zu der Länge der Versorgungskammer sehr kurze Füllkanal 43 eignet sich zum Einfüllen einer nichtschäumenden Flüssigkeit. Für Fälle, bei denen auch die Versorgungsflüssigkeit zur Schaumbildung neigt, wäre auch der Füllkanal 43 bis nahe an die Membran 7 heranzuführen.

Ebenfalls in den der Membran 7 gegenüberliegenden Wänden 38,40 ist jeweils eine Entlüftungsöffnung 45 bzw. 46 vorgesehen. Sie hat vorzugsweise eine Gestalt (beispielsweise in Form eines sehr schmalen Langloches), die das Ansetzen einer Pipette unmöglich macht, so daß versehentliches Befüllen durch die Belüftungsöffnung nicht möglich ist.

Die Füllöffnungen 40,41 und die Entlüftungsöffnungen 45,46 sind jeweils mittels eines Verschlußstopfens 47 verschließbar, der jeweils von einem Klappteil 49 bis 52 senkrecht zu dessen Flächenausdehnung hervorspringt. Die Klappteile 49 bis 52 sind - kostengünstig mittels Filmscharnieren 53 - jeweils an der der semipermeablen Membran 7 gegenüberliegenden Wand 38 bzw. 39 derartig schwenkbar angelenkt, daß der Stopfen 47 in die jeweilige Öffnung 40,41,45,46 dichtend eindringt, wenn das Klappteil 49 bis 52 in die in Figur 5 dargestellte Position gebracht wird. Zum Öffnen der jeweiligen Öffnung wird das Klappteil hochgeschwenkt, wie dies beispielsweise für das Klappteil 50 gestrichelt dargestellt ist.

Auch bei der in Figur 5 dargestellten Ausführungsform befinden sich in den Kammern 10,12 vorzugsweise (der Übersichtlichkeit halber nicht dargestellte) Magnetrührelemente, die bei der Herstellung des Moduls 2 in die Kammern eingebracht wurden, so daß der gebrauchsfertig an den Benutzer gelieferte Modul die Magnetrührelemente 17 vorgepackt enthält.

Die erfindungsgemäßen Bioreaktionsmodule ermöglichen eine sehr effektive biochemische Reaktion mit einer vergleichsweise geringen Austauschfläche 7a der Membran 7 in Relation zu dem Volumen der jeweiligen Systemkammer 12.

Vorzugsweise liegt die Relation zwischen der Gesamtaus-
tauschfläche von einer oder mehreren die Systemkammer 12
gegenüber einer oder mehreren Versorgungskammern begren-
zenden Membranen und dem Gesamtvolumen der Systemkammer
12 bei höchstens $4,0 \text{ Einheit}^{-1}$, wobei eine Untergrenze
von $0,2 \text{ Einheit}^{-1}$ nicht unterschritten werden sollte.

Der in Figur 5 dargestellte Bioreaktionsmodul ermöglicht
eine besonders einfache Handhabung ohne Einschränkungen
der Effektivität. Er ist sehr klein, wie die in Figur 4
eingetragenen Maßangaben (in mm) verdeutlichen. Zweckmä-
ßigerweise bilden die Wände 38,39, die die Füllöffnungen
40,41 und vorzugsweise auch die Entlüftungsöffnungen
45,46 enthalten, jeweils eine Standfläche 54 bzw. 55, die
so ausgebildet und orientiert ist, daß die jeweils andere
Kammer 12 bzw. 10 befüllt werden kann, wenn der Modul 2
auf einer eine der Kammern 10 bzw. 12 begrenzenden Stand-
fläche 54 bzw. 55 steht.

Bei einem Modul mit nur zwei Kammern ist die dargestellte
Gestaltung mit zwei im wesentlichen parallel verlaufenden
einander gegenüberliegenden Flächen 38,39, darin enthal-
tenen Öffnungen 40,41,45,46 und den entsprechen Klapptei-
len 49 bis 52 besonders vorteilhaft. Die genannten Kon-
struktionselemente sind aber auch bei anderen Gestaltun-
gen des Bioreaktionsmoduls 2 vorteilhaft verwendbar.

Ansprüche

1. Bioreaktionsmodul für biochemische Reaktionen, insbesondere für die zellfreie Polypeptid-Biosynthese, mit einem Gehäuse (1), das eine Systemkammer (12) und eine Versorgungskammer (10) umschließt, wobei die Systemkammer (12) während der biochemischen Reaktion ein produzierendes System enthält, die Versorgungskammer (10) während der biochemischen Reaktion eine Versorgungsflüssigkeit enthält und die Systemkammer (12) und die Versorgungskammer (10) durch eine semipermeable Membran (7) getrennt sind, bei welchem das Gehäuse (1) mindestens zwei Kammer-
teile (3,5) aufweist, zwischen denen eine semipermeable Membran (7) mittels der Membran (7) an ihrem peripheren Randbereich (14) einfassenden Dichtungsmitteln (9) derartig abdichtend gespannt ist, daß die Systemkammer (12) von einem Systemkammerteil (5) und der semipermeablen Membran (7) und die Versorgungskammer von einem Versorgungskammerteil (3) und der semipermeablen Membran (7) begrenzt ist.
2. Modul nach Anspruch 1, bei welchem eines der Kammer-
teile (5 bzw. 3) in dem zum Einspannen der semipermeablen Membran (7) dienenden Spannungsbereich (18) eine umlaufende Nut (13) und das andere Kammerteil (3 bzw. 5) eine in die Nut (13) eindringende vorspringende Rippe (16) aufweist, durch die die Membran (7) an ihrem zwischen den Kammerteilen (3,5) eingespannten peripheren Randbereich (14) in die Nut gedrückt wird.

3. Modul nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei welchem die mindestens eine Versorgungskammer (10) und/oder die Systemkammer (12) ein Magnetrührelement (17) enthält.
4. Modul nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei welchem mindestens eines der Kammerteile (3,5) in einer der semipermeablen Membran (7) gegenüberliegenden Wand (38,39) eine Füllöffnung (40,41) zum Füllen der von dem Kammerteil (3,5) umschlossenen Kammer (10,12) aufweist.
5. Modul nach Anspruch 4, bei welchem sowohl das Systemkammerteil (5) als auch das Versorgungskammerteil (3) in einer der Membran gegenüberliegenden Wand (38,39) eine Füllöffnung (40,41) zum Füllen der von dem Kammerteil (3,5) umschlossenen Kammer (10,12) aufweist.
6. Modul nach Anspruch 5, bei welchem die die Füllöffnungen (40,41) enthaltenen Wände (38,39) des Systemkammerteils (5) und des Versorgungskammerteils (3) jeweils als Standflächen (54,55) für den Modul (2) ausgebildet und derartig orientiert sind, daß bei auf einer solchen Standfläche (z.B. 54) stehendem Modul die jeweils andere Kammer (z.B. 12) befüllt werden kann.
7. Modul nach einem der Ansprüche 4 bis 6, bei welchem die Füllöffnung (40,41) mittels eines Verschlußstopfens (47) verschließbar ist, der von einem Klappteil (49-52) hervorspringt, das an der der semipermeablen Membran (7) gegenüberliegenden Wand (38,39) schwenkbar angelenkt ist.

8. Modul nach einem der Ansprüche 4 bis 7, bei welchem die der semipermeablen Membran (7) gegenüberliegende Wand (38,39) außer der Füllöffnung (40,41) eine zusätzliche Entlüftungsöffnung (45,46) aufweist.
9. Modul nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei welchem die semipermeable Membran (7) eine Dialysemembran ist.
10. Modul nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei welchem die Ausschlußgrenze der Membran (7) mindestens 10 kDalton und höchstens 20 kDalton beträgt.
11. Modul nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei welchem das Gehäuse eine Systemkammer (12) und zwei an die Systemkammer angrenzende Versorgungskammern (10,11) einschließt, die von der Systemkammer (12) durch eine erste und eine zweite semipermeable Membran (7,8) getrennt sind und das Gehäuse (1) zwei Versorgungskammerteile (3,4) aufweist, wobei die erste semipermeable Membran (7) zwischen dem Systemkammerteil (5) und dem ersten Versorgungskammerteil (3) und die zweite semipermeable Membran (8) zwischen dem Systemkammerteil (5) und dem zweiten Versorgungskammerteil (4) eingespannt ist.
12. Modul nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei welchem die Relation zwischen dem Volumen der Systemkammer (12) und dem Gesamtvolumen von einer oder mehreren an die Systemkammer (12) angrenzenden, von dieser durch eine semipermeable Membran getrennten Versorgungskammern (10,11) mindestens 1:5 und höchstens 1:20 beträgt.

13. Modul nach einer der vorhergehenden Ansprüche, bei welchem die Relation zwischen der Gesamtaustauschfläche von einer oder mehreren die Systemkammer gegenüber einer oder mehreren Versorgungskammern begrenzenden Membranen und dem Gesamtvolumen der Systemkammer mindestens $0,2 \text{ Einheit}^{-1}$ und höchstens $4,0 \text{ Einheit}^{-1}$ beträgt.
14. Verfahren zur Durchführung einer biochemischen Reaktion mittels eines Moduls nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei welchem während der biochemischen Reaktion die Versorgungsflüssigkeit in der Versorgungskammer (10) nicht mit externem Druck beaufschlagt wird, so daß der molekulare Austausch zwischen der Versorgungskammer (10) und der Systemkammer (12) im wesentlichen auf Diffusion basiert.
15. Verfahren nach Anspruch 14 in Verbindung mit Anspruch 3, bei welchem das produzierende System und/oder die Versorgungsflüssigkeit während der biochemischen Reaktion mittels des Magnetrührelementes (17) gerührt wird.
16. Verfahren nach Anspruch 14, bei welchem der Bioreaktionsmodul während der biochemischen Reaktion geschüttelt wird.

1 / 4

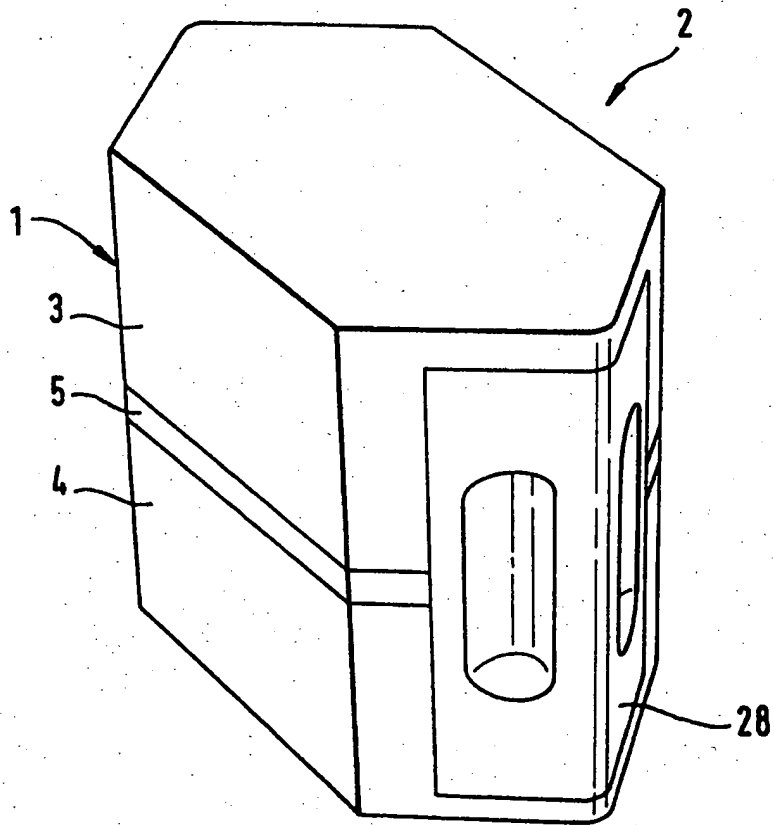
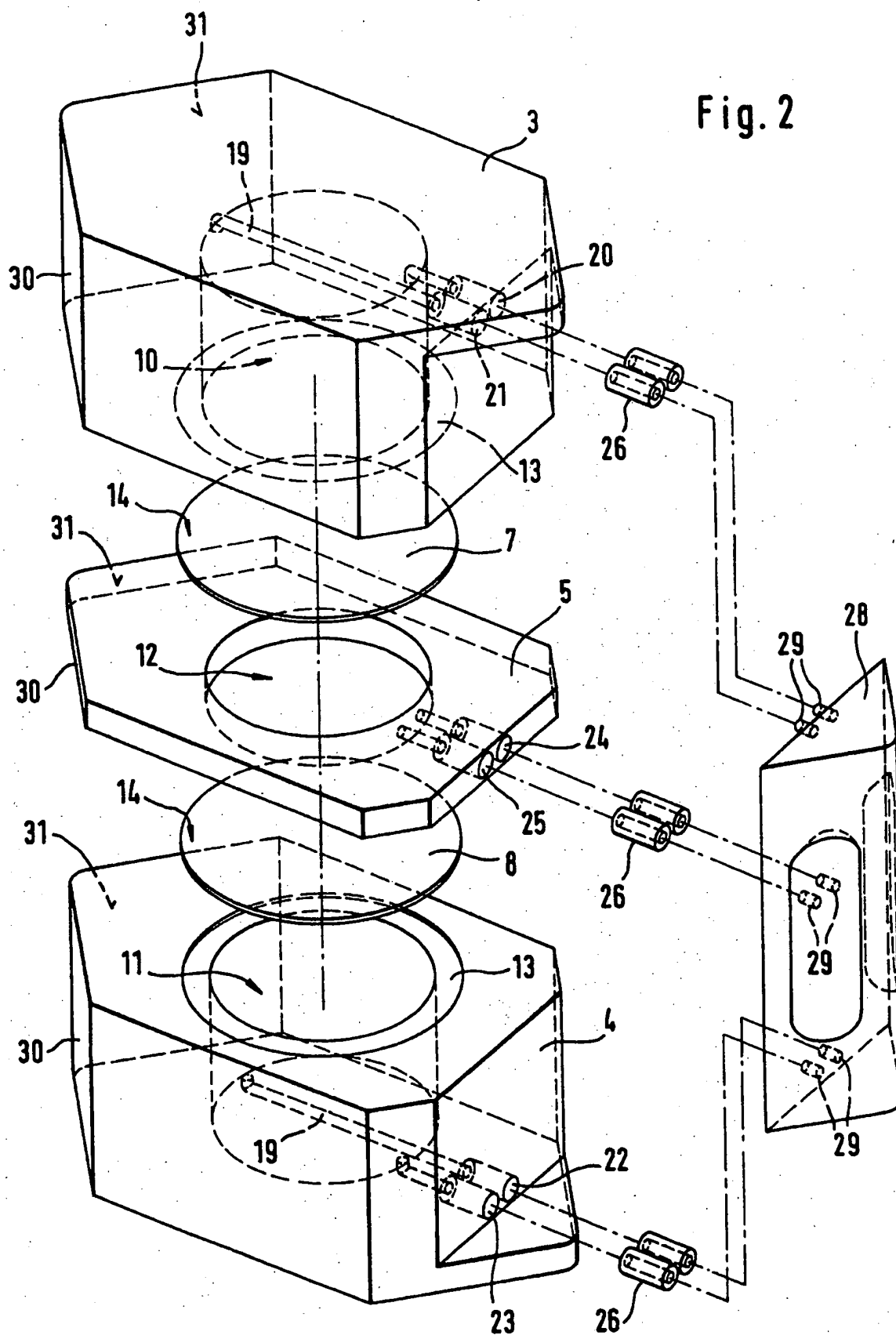


Fig. 1

2 / 4

Fig. 2



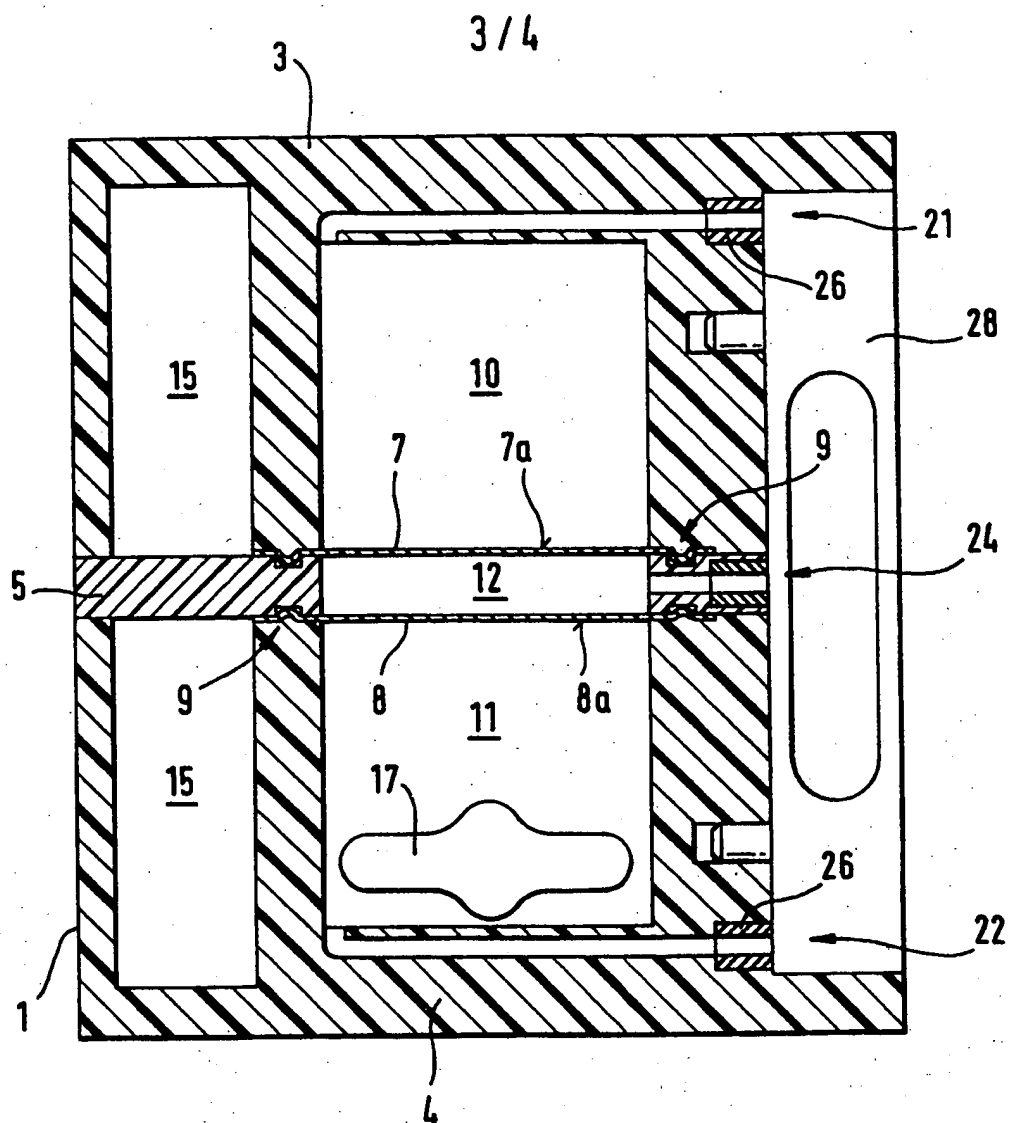


Fig. 3

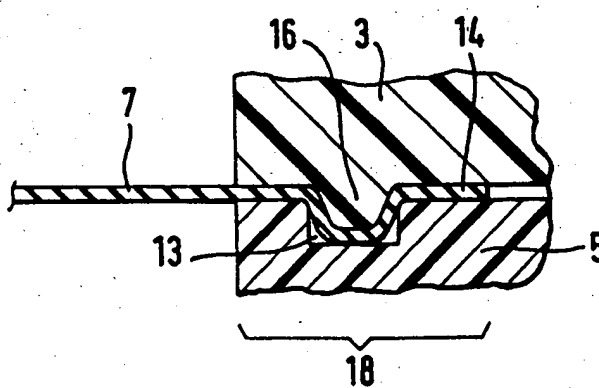


Fig. 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 00/00190

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12M1/40 C12P21/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12M C12P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KIM D M ET AL: "A semicontinuous prokaryotic coupled transcription/translation system using a dialysis membrane." BIOTECHNOLOGY PROGRESS., vol. 12, no. 5, September 1996 (1996-09), pages 645-649, XP002106860 ISSN: 8756-7938 abstract figure 4 page 646, column 1, paragraph 7 page 648, column 1, paragraph 2	1,3,9
X	WO 94 18341 A (US GOVERNMENT) 18 August 1994 (1994-08-18) abstract figure 2 page 5 -page 8	1,2,9-12



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 June 2000

Date of mailing of the international search report

20/06/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Lejeune, R

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Interr. nal Application No

PCT/DE 00/00190

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 92 07062 A (RHONE ALPES FOND FUTUR) 30 April 1992 (1992-04-30) abstract figure 1 example 3 claim 1	1,2,9, 10,14
P,X	EP 0 894 852 A (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 3 February 1999 (1999-02-03) abstract figure 1	1
A	US 5 478 730 A (ALAKHOV JULY B ET AL) 26 December 1995 (1995-12-26) cited in the application the whole document	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/DE 00/00190

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9418341 A	18-08-1994	US 5434079 A AU 6132594 A	18-07-1995 29-08-1994
WO 9207062 A	30-04-1992	FR 2667874 A AU 8874491 A PT 99231 A	17-04-1992 20-05-1992 30-11-1993
EP 0894852 A	03-02-1999	DE 19832160 A JP 11127889 A	04-02-1999 18-05-1999
US 5478730 A	26-12-1995	SU 1705302 A AT 123308 T CA 1318626 A CN 1043743 A DD 279270 A DE 58909270 D EP 0401369 A JP 3503479 T WO 9007003 A AT 130633 T AT 147787 T CA 2064685 A,C CA 2064754 A,C DE 69023773 D DE 69023773 T DE 69029744 D DE 69029744 T DK 593757 T EP 0485608 A EP 0593757 A JP 2891540 B JP 5505095 T WO 9102075 A WO 9102076 A	15-01-1992 15-06-1995 01-06-1993 11-07-1990 30-05-1990 06-07-1995 12-12-1990 08-08-1991 28-06-1990 15-12-1995 15-02-1997 01-02-1991 01-02-1991 04-01-1996 24-10-1996 27-02-1997 10-07-1997 07-07-1997 20-05-1992 27-04-1994 17-05-1999 05-08-1993 21-02-1991 21-02-1991

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 00/00190

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12M1/40 C12P21/02

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12M C12P

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	KIM D M ET AL: "A semicontinuous prokaryotic coupled transcription/translation system using a dialysis membrane." BIOTECHNOLOGY PROGRESS., Bd. 12, Nr. 5, September 1996 (1996-09), Seiten 645-649, XP002106860 ISSN: 8756-7938 Zusammenfassung Abbildung 4 Seite 646, Spalte 1, Absatz 7 Seite 648, Spalte 1, Absatz 2 ---	1,3,9
X	WO 94 18341 A (US GOVERNMENT) 18. August 1994 (1994-08-18) Zusammenfassung Abbildung 2 Seite 5 -Seite 8 ---	1,2,9-12



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

13. Juni 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

20/06/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Lejeune, R

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inter. Aktuelles Aktenzeichen

PCT/DE 00/00190

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>W0 92 07062 A (RHONE ALPES FOND FUTUR) 30. April 1992 (1992-04-30) Zusammenfassung Abbildung 1 Beispiel 3 Anspruch 1</p> <p>---</p>	<p>1,2,9, 10,14</p>
P,X	<p>EP 0 894 852 A (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 3. Februar 1999 (1999-02-03) Zusammenfassung Abbildung 1</p> <p>---</p>	<p>1</p>
A	<p>US 5 478 730 A (ALAKHOV JULY B ET AL) 26. Dezember 1995 (1995-12-26) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument</p> <p>-----</p>	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Intern. Aktenzeichen

PCT/DE 00/00190

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9418341 A	18-08-1994	US 5434079 A AU 6132594 A	18-07-1995 29-08-1994
WO 9207062 A	30-04-1992	FR 2667874 A AU 8874491 A PT 99231 A	17-04-1992 20-05-1992 30-11-1993
EP 0894852 A	03-02-1999	DE 19832160 A JP 11127889 A	04-02-1999 18-05-1999
US 5478730 A	26-12-1995	SU 1705302 A AT 123308 T CA 1318626 A CN 1043743 A DD 279270 A DE 58909270 D EP 0401369 A JP 3503479 T WO 9007003 A AT 130633 T AT 147787 T CA 2064685 A,C CA 2064754 A,C DE 69023773 D DE 69023773 T DE 69029744 D DE 69029744 T DK 593757 T EP 0485608 A EP 0593757 A JP 2891540 B JP 5505095 T WO 9102075 A WO 9102076 A	15-01-1992 15-06-1995 01-06-1993 11-07-1990 30-05-1990 06-07-1995 12-12-1990 08-08-1991 28-06-1990 15-12-1995 15-02-1997 01-02-1991 01-02-1991 04-01-1996 24-10-1996 27-02-1997 10-07-1997 07-07-1997 20-05-1992 27-04-1994 17-05-1999 05-08-1993 21-02-1991 21-02-1991